

Aus dem Pathologischen Institut der Johannes-
Gutenberg-Universität Mainz
(Direktor: Prof.Dr. W. Thoenes)

Disk-elektrophoretische Untersuchungen zur post-
natalen Differenzierung der Laktatdehydrogenase
und der sauren Phosphatase im Darm der Ratte.

Inauguraldissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der Medizin
der Johannes Gutenberg- Universität Mainz
den Medizinischen Fachbereichen

vorgelegt von
Wolfgang P a a s c h
aus Heidelberg

Mainz 1974

1975

Aus dem Pathologischen Institut der Johannes-
Gutenberg-Universität Mainz
(Direktor: Prof.Dr. W. Thoenes)

Disk-elektrophoretische Untersuchungen zur post-
natalen Differenzierung der Laktatdehydrogenase
und der sauren Phosphatase im Darm der Ratte.

Inauguraldissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der Medizin
der Johannes Gutenberg- Universität Mainz
den Medizinischen Fachbereichen

vorgelegt von
Wolfgang P a a s c h
aus Heidelberg

Mainz 1974

Fachbereichsdekan: Prof. Dr. R. Wolf

Referent: Prof. Dr. A. Schäfer

Korreferent: Prof. Dr. med. J. Löhr

Tag der mündlichen

Prüfung: 17.12.1975



G e w i d m e t

meinen Eltern und

Frau Apothekerin Maria Schell



Digitized by the Internet Archive
in 2026

INHALTSVERZEICHNIS

I.	Einleitung	1
II.	Material und Methode	9
	1. Tiermaterial	9
	2. Methode der Disk- Elektrophorese	10
	3. Färbemethode	13
	4. Durchführung der Elektrophorese	14
III.	Eigene Ergebnisse	17
	1. Saure Phosphatase	17
	2. Laktatdehydrogenase	25
IV.	Diskussion	34
V.	Zusammenfassung	44
VI.	Literaturverzeichnis	45
VII.	Lebenslauf	62

I. EINLEITUNG

In mehreren bisherigen Untersuchungen wurde gezeigt, daß sich die Darmschleimhaut neugeborener Ratten nicht nur funktionell und strukturell von der Darmschleimhaut erwachsener Tiere stark unterscheidet, sondern auch im histochemisch und biochemisch nachweisbaren Enzymverteilungsmuster. Erst am Ende der 3. Lebenswoche erfolgt eine Adaptation an die Verhältnisse erwachsener Tiere. (Zusammenfassende Literatur: Höhn und Schäfer 1972; Schäfer 1972). In dieser Arbeit soll zu der Frage Stellung genommen werden, ob synchron mit der nachgewiesenen postnatalen Wandlung der Struktur und des topochemischen Enzymverteilungsmusters auch eine qualitative Wandlung der Laktatdehydrogenase und der sauren Phosphatase erfolgt. Da die Methode der diskontinuierlichen Polyacrylamid-Elektrophorese die Möglichkeit bietet, Enzyme in verschiedene Fraktionen aufzuspalten, kann mit dieser Methode neben einer semiquantitativen Aussage vor allem eine differenzierte Aussage über die qualitative Zusammensetzung eines Enzyms gemacht werden.

Die Laktatdehydrogenasen der meisten Tiere, Mikroorganismen und Pflanzen sind Nicotinamid-adenin-dinucleotid (NAD^+) abhängige Dehydrogenasen. Nur wenige wurden bisher isoliert, die von Flavoproteinen abhängig sind. Die NAD -abhängigen Laktatdehydrogenasen katalysieren folgende Gesamtreaktion:



Bei der Reaktion wird der spezifische Wasserstoff,

der von der Hydroxylgruppe des Laktats stammt, an das C_4 - Atom des Nicotinamidringes gebunden und auf den Carbonyl-Kohlenstoff der Bernsteinsäure übertragen. Die Laktatdehydrogenase (LDH) spielt eine wichtige Rolle bei verschiedenen Stoffwechselwegen: sie bildet das Zentrum des feinausbalancierten Gleichgewichtes zwischen Ab- und Aufbau der Kohlenhydrate; sie ist das bestimmende Enzym in der anaeroben Glykolyse, die den Abbau der Glucose zu Laktat unterstützt und deshalb zur ATP-Gewinnung von Bedeutung ist; auch ist sie an der Gluconeogenese beteiligt in Organen, in denen das Laktat Glykogen gebildet wird. Außerdem spielt sie eine wichtige Rolle in sauerstoffverbrauchenden Geweben wie z.B. im Herz, wo Laktat im Zitronensäurezyklus oxidiert wird und NADH und ATP gewonnen wird.

Bei allen höheren Lebewesen wird die L-Isomere des Laktats verarbeitet, nur bei einigen niedrigen Tieren spielt die D-Isomere des Laktats eine Rolle. (Karlson, 1967; Everse und Kaplan, 1973).

Besonderes Interesse fand der molekulare Aufbau der Laktatdehydrogenase und wurde von verschiedenen Autoren mit unterschiedlichen Methoden untersucht. So wiesen schon Vesell und Bearn (1957) auf die molekulare Heterogenität der Laktatdehydrogenase hin, ebenso Pfeleiderer und Jeckel (1957), die die Laktatdehydrogenase verschiedener Säugetiere untersuchten. Hunter und Markert (1957) setzten mit Erfolg die Stärkegelelektrophorese nach Smithies (1955) in Verbindung mit histologischen Färbemethoden ein, um die Enzymheterogenität verschiedener

Organhomogenate nachzuweisen. Markert und Møller (1959) bereicherten die Nachweismethode der Laktatdehydrogenase um eine Färbetechnik mit Tetrazoliumsalz und schlugen vor, die verschiedenen molekularen Formen eines Enzyms, die in einem einzelnen Organismus gefunden werden, "Isoenzyme" zu nennen.

Die LDH-Isoenzyme einzelner Vogelarten und Säugetiere sind aus vier verschiedenen Untereinheiten zusammengesetzt. Es gibt zwei verschiedene Arten von Untereinheiten, die entweder mit A und B oder mit M und H bezeichnet werden. (Apella und Markert, 1961; Cahn und Mitarbeiter, 1962).

Aus der zufälligen Zusammenlagerung dieser beiden unterschiedlichen Untereinheiten entstehen fünf Isoenzymkombinationen (Apella und Markert, 1961) mit folgendem Untereinheitenaufbau: $A^0B^4(H_4)$, $A^1B^3(H_3M)$, $A^2B^2(H_2M_2)$, $A^3B^1(HM_3)$ und $A^4B^0(M_4)$ (Apella und Markert, 1961; Cahn und Mitarbeiter, 1962). Markert bestätigte diese Untereinheitenstruktur mit der Auftau- und Einfriertechnik, indem er die tetrameren Isoenzyme durch Frieren in 1-molarer NaCl-Lösung in Monomere zerlegte. Beim Auftauen erfolgte eine zufällige Zusammenlagerung in ein funktionstüchtiges Tetramer. Der Unterschied in der Aminosäuresequenz der Untereinheiten A und B deutet darauf hin, daß sie von zwei getrennten Genen kontrolliert werden (Markert, 1962). Den Beweis für diese Theorie erbrachten Shaw und Barto (1963), die ein genetisch festgelegtes unterschiedliches Muster der LDH-Isoenzyme in Nieren- und Gehirnextrakten von bestimmten Stämmen der "roten Maus" *Peromyscus maniculatus*, fanden.

Auch Rabinowitz und Dietz (1967) zeigten mit Hilfe von Phytohämagglutinin an Lymphozyten, daß zwei genetische Stellen vorhanden sind, die die Synthese der Untereinheiten A und B kontrollieren.

Bei der Ermittlung der Enzymverteilungsmuster verschiedener Wirbeltiere zeigten Pfeleiderer und Jeckel (1957) und Wieland und Mitarbeiter (1959), daß die Isoenzymmuster der LDH organ- und speziesspezifisch sind.

Die LDH-Isoenzyme wurden bezugnehmend ihrer elektrophoretischen Wanderung vom Start bis zum Endpunkt fortlaufend mit LDH₁ bis LDH₅ benannt (Wróblewski und Gregory, 1961).

Im Laufe der Jahre wurde mit Hilfe unterschiedlicher Methoden, wie zum Beispiel, der Stärkegelelektrophorese, Agaroselektrophorese und Polyacrylamid-Discelektrophorese bis 5 Isoenzyme der LDH in den Organen unterschiedlicher Spezies aufgetrennt. Außerdem wurde nicht nur die Organspezifität und Artspezifität des Isoenzymmusters bestätigt, sondern zusätzlich die Abhängigkeit des Isoenzymmusters von Entwicklungsprozessen gefunden. Folgende Spezies waren Gegenstand dieser zahlreichen Untersuchungen: die Ratte (Takepeace, 1960; Fine und Mitarbeiter, 1969); die Maus (Allen, 1961; Markert und Ursprung, 1962; Burich und Keith, 1968); das Mähnchen (Cahn und Mitarbeiter, 1962; Alcorn und Maisel, 1967; Schultz und Ruth, 1968; Yamaguchi, 1970); das Schwein (Markert und Möller, 1959; Fieldhouse und Masters, 1966; Karlsson, 1968); der Mensch

(Pfleiderer und Wachsmuth, 1961; Car und Pearson, 1963; Matsuoka, 1968; Francesconi und Villee, 1969) und **einige** andere Tierarten, wie die Schnecke, das Kaninchen und der Sperling, *passer domesticus* (Goldberg und Cather, 1963; Hellung, 1968; Farror und Bush, 1969).

Zusätzlich entdeckte Untereinheiten der LDH waren immer nur in bestimmten Zellen aktiv. So wurde, zum Beispiel, die LDH-X in Spermatozoen einiger Lebewesen gefunden (Goldberg, 1964). Dieses LDH-X-Isoenzym, spezifisch für Hoden und Spermien, wurde bei der Ratte hauptsächlich in Mitochondrien mit dichter Matrix und weiten Leisten lokalisiert (Domenech und Mitarbeiter, 1970).

Das Molekulargewicht gereinigter LDH-X vom Hoden erwachsener Ratten wurde von Wong und Mitarbeiter (1971) bestimmt.

In den letzten Jahren wurde in verschiedenen Untersuchungen gezeigt, daß die Isoenzyme der Laktatdehydrogenase sich unterscheiden : in kinetischen Eigenschaften, der Reaktion mit NAD-Analogen, der Substratspezifität, der Umsatzraten, der Michaelis-Konstanten und optimalen Substratkonzentrationen, der Thermostabilität, der Harnstoffdenaturierung, der Hemmung durch Reagentien mit SH-Gruppen und der Substrathemmung, entweder durch hohe Lactat- oder Pyruvatkonzentrationen (Plagemann und Mitarbeiter, 1960; Allen 1961; Kaplan und Giotti, 1961; Plagemann und Mitarbeiter, 1961; Whithycomb und Mitarbeiter, 1965; Vesell und Yielding, 1966; Pesce und Mitarbeiter, 1967). Diese letzte Eigenschaft gab Anlaß zur

Vermutung, daß das Vorherrschen von LDH-5 (das A_4 - Tetramere) in einer Zelle und die anaerobe Stoffwechsellage der Zelle in Zusammenhang steht; so enthalten auch die meisten Säugetiermuskeln eine große Menge von LDH-5. Andererseits enthalten diejenigen Organe, die einen relativ konstanten Bedarf an Sauerstoff haben, hauptsächlich LDH-1 und LDH-2. Diese Verteilung der Isoenzyme hat eine physiologische Bedeutung, da die Funktion des Isoenzyms LDH-5 auch bei hohen Milchsäurekonzentrationen, wie sie im Skelettmuskel vorkommen, erhalten bleibt (Markert, 1968). Während erhöhter Stoffwechselaktivität und steigender Glucoseverwertung würden größere Pyruvatmengen anfallen, was normalerweise zu einem erhöhten Milchsäurespiegel führen würde.

Organe, deren Enzymmuster hauptsächlich aus LDH-1 und LDH-2 besteht, würden an der Umformung größerer Mengen von Pyruvat zu Lactat gehindert werden, infolge der steigenden Substrathemmung dieser Isoenzyme durch Pyruvat. Die Milchsäureproduktion hat in diesen Organen relativ konstant niedrige Spiegel, sogar bei schwankenden Pyruvatkonzentrationen (Markert und Ursprung, 1962). Markert und Ursprung, wie auch zum Beispiel Allen (1961) erwägten eine topographische Beziehung der LDH-Isoenzyme zu den Zellorganellen, die man sich auf Grund der elektrochemischen Ladungsunterschiede der Enzyme vorstellen könnte. So fanden Barba und Sharna (1971) mit elektronenmikroskopischen und histochemischen Untersuchungsmethoden bei Sprague-Dawley Ratten, daß in der Herzmuskelzelle die LDH-1 hauptsächlich in

den Mitochondrien und im Sarkoplasma, wogegen in der Skelettmuskelzelle die LDH-5 hauptsächlich im endoplasmatischen Reticulum lokalisiert waren. Es wird vermutet, daß das endoplasmatische Reticulum der Skelettmuskelzelle der Sitz der anaeroben Glykolyse, während die Mitochondrien und das Sarkoplasma bevorzugt mit dem aeroben Pyruvatstoffwechsel im Zusammenhang steht.

Die Funktion der sauren Phosphatase (s.Ph.) ist bei weitem nicht so geklärt, wie die der LDH, da sie nicht Gegenstand so zahlreicher Untersuchungen war, wie die LDH. Sie soll eine bedeutende Rolle beim physiologischen Abbau der Epithelien der Darm-schleimhaut spielen (Laxter-Grillo, 1970). Diese Vermutung wird durch Arbeiten anderer Autoren unterstützt, die feststellten, daß bei krankhafter bzw. experimenteller Zellirritation die Aktivität der s.Ph. ansteigt (Tappel, 1962; Zalkin, 1962; Mellors und Mitarbeiter, 1967; Mellors und Tappel, 1967; Emanuelli, 1969; Hugon und Borgers, 1967; Meijer, 1972).

Ob die s.Ph. bei der Resorption von Nahrungsbestandteilen eine Rolle spielt, läßt sich nur schwer beurteilen. Barka (1963 und 1964) fand nach Fettfütterung einen lysosomalen Aktivitätsabfall der s.Ph. in den Darmepithelien. Insbesondere scheint die s.Ph. eine Funktion bei der Aufnahme von Nahrungsbestandteilen durch Pinozytose und Phagozytose zu haben, eine Form der Stoffaufnahme, wie sie vorrangig bei neugeborenen Tieren gefunden wird (Behnke, 1961; Trier und Rubin, 1965; Williams und

Beck, 1969a und b; Wissig und Graney, 1968;
Cornell und Padykula 1965).

De Duve (1963, 1964) und Straus (1967) bezeichnen die s.Ph. als ein lysosomales Leitenzym, das bei elektronenmikroskopischen Untersuchungen auch in den Lysosomen der Darmepithelien nachgewiesen wurde (Hugon und Borges 1967 und 1968; Millington und Brown, 1967; Beadle und Mitarbeiter, 1971). Es findet sich ebenfalls eine Aktivität der s.Ph. im Bürstensaum, Golgi-Apparat und den Zellmembranen (Shnitka, 1960; Ogawa, 1963; Jervis, 1963; Barka, 1964; Riecken und Mitarbeiter, 1965, 1967a und b; Iwai, 1969; Hugon und Charnel, 1971). Umstritten ist hingegen die Lokalisation der s.Ph. im Zellkern. So fanden Lane und Novikoff (1965) erst nach Schädigung der Zellen eine saure Phosphataseaktivität im endoplasmatischen Retikulum und der Kernmembran, während Hsu und Tappel (1964) und Öckermann (1965) eine hohe Konzentration der s.Ph. in der Zellkernfraktion fanden.

II. MATERIAL UND METHODE

1. Tiermaterial:

Alle Versuche wurden mit männlichen Ratten eines Wistar-Stammes aus der Zucht des Pathologischen Institutes Mainz durchgeführt. Um tagesrhythmisch bedingte Schwankungen der Enzymaktivität auszuschließen, wurden alle Untersuchungen um 16.00 Uhr durchgeführt (Mika 1972).

Das Untersuchungsgut umfaßte jeweils drei Ratten folgender sieben postnataler Altersstufen:

1. Tag, 10. Tag, 15. Tag, 20. Tag, 25. Tag,
3 Monate alte Tiere und 18 Monate alte Tiere.

Den Versuchstieren wurden folgende drei Darmabschnitte entnommen:

Duodenum 1 cm nach dem Pylorus, Unteres Ileum 1 cm vor der Bauhin'schen Klappe, Colon ascendens 1 cm hinter der Bauhin'schen Klappe.

Von jedem Darmabschnitt wurden nach Reinigung in Ringerlösung (5° C) 0,1 g abgewogen und anschließend in 1,66 ml Ringerlösung 20 sec lang homogenisiert. Als Homogenisator diente das Gerät "ULTRA TURRAX".

Das Homogenisat wurde 10 min lang bei 4200 U/min zentrifugiert. In 0,1 ml Überstand wurden 1,9 ml 40%-ige Saccharose pipettiert. Von dieser Lösung wurden jeweils 0,3 ml für die discelektrophoretische Trennung verwandt.

Um einen Aktivitätsverlust der zu untersuchenden Enzyme soweit wie möglich zu vermeiden, wurden die oben beschriebenen Arbeitsgänge größtenteils im Eisbad durchgeführt.

Da beim postnatalen Rattendarm niedrigere Gewichtsverhältnisse vorliegen, als beim Darm erwachsener Tiere, wurden bei den Versuchstieren der Altersstufen ^{bis} zum 20. Lebenstag niedrigere Gewichte der einzelnen Darmabschnitte eingewogen, entsprechend mußten auch die zugesetzten Lösungen im Verhältnis verringert werden.

2. Methode der Disk-Elektrophorese

Zur Durchführung der Untersuchung wurde die diskontinuierliche Polyacrylamid-Discelektrophorese angewandt.

A. Laktatdehydrogenase

(modifiziert nach Goldberg 1963, 1963a, 1964;
Dietz und Lubrano 1967, 1970; Maurer 1968;
Emanuelli et al. 1970)

1) Trenngel

Lösung A 48 ml 1n HCL
36,6 g Tris¹ ad 100 ml H₂O
0,23 ml Temed² pH 8,9

Lösung B 30,0 g Acrylamid
0,8 g Bis³ ad 100 ml H₂O

Lösung C 0,14 g Per⁴ ad 100 ml H₂O

Zur Herstellung eines 7,5%-igen Gels von pH 8,9 wurden die Lösungen in folgendem Verhältnis gemischt:

1 Teil Lösung A, 2 Teile Lösung B, 4 Teile Lösung C; 1 Teil H_2O

- 1 Tris : Trishydroxy-methylaminomethan
- 2 Temed: N,N,N',N',-Tetramethyläthylendiamin
- 3 Bis : N,N' - Methylenebisacrylamid
- 4 Per : Ammoniumperoxodisulfat

2) Elektrodenpuffer

6,0 g Tris

28,8 g Glycin ad 100 ml H_2O
pH 8,3

Zum Gebrauch wird der Puffer von pH 8,3

1 : 10 verdünnt.

3) Bromphenolblau

10 mg Bromphenolblau ad 1000 ml H_2O

B. Saure Phosphatase

(modifiziert nach Kaschnitz 1967 und Höhn 1971)

Zur Trennung dieses Enzyms wurde ein Sammelgel benutzt.

1) Sammelgel

Lösung A	39 ml	1 m H_3PO_4	
	4,95 g	Tris	
	0,46 ml	Temed	ad 100 ml H_2O
			pH 5,5

Lösung: 10,0 g Acrylamid
2,5 g Bis ad 100 ml H₂O

Lösung C 4,0 mg Riboflavin ad 100 ml H₂O

Lösung D 40,0 g Saccharose ad 100 ml H₂O

Zur Herstellung eines 2,5%-igen Sammelgels von pH 5,5 wurden die Lösungen in folgendem Verhältnis gemischt:

1 Teil Lösung A, 2 Teile Lösung B,
1 Teil Lösung C, 4 Teile Lösung D.

2) Trennung

Lösung A	48 ml	1 n HCL
	6,85 g	Tris
	0,46 ml	Temed ad 100 ml H ₂ O
		pH 7,5

Lösung B 30,0 g Acrylamid
 0,8 g Bis ad 100 ml H₂O

Lösung C 0,14 g Per ad 100 ml H₂O

Zur Herstellung eines 7,5%-igen Trenngels von pH 7,5 wurden die Lösungen in folgendem Verhältnis gemischt:

1 Teil Lösung A, 2 Teile Lösung B,
1 Teil H_2O , 4 Teile Lösung C.

3) Elektrodenpuffer

5,52 g Diäthylbarbitursäure
1,0 g Tris ad 1000 ml H₂O
pH 7,0

4) Methylenblau

5 mg Methylenblau ad 100 ml H₂O

3. Färbemethode

A. Laktatdehydrogenase (Nachlas et al 1958)

Herstellung der Inkubationslösung

DPN	5 mg/ml H ₂ O	1,5 ml
Nitro BT	5 mg/ml H ₂ O	1,5 ml
Phosphatpuffer	pH 7,4	5,0 ml
Natriumlactat	0,5 m	3,0 ml
Aqua bidest.		4,0 ml
Phenazin-methosulfat	1 mg/ ml H ₂ O	0,25 ml/10 ml
		Incubationslösung

B. Saure Phosphatase

Herstellung der Inkubationslösung:

(Grog and Pearse 1952)

Veronalpuffer	0,05 m	24 ml
Na-1-naphtylphosphat	0,1 % (0,001 g/ml) ..	0,024 g
Fast Garnet GBC	0,2% (0,002 g/ml) ..	0,048 g
	pH 4,9	

4. Durchführung der Elektrophorese

Zur Durchführung der Discelektrophorese standen detaillierte Anweisungen von Ornstein (1964), von Davis (1964), Raymond (1964), Raymond u. Weintraub (1959), Maurer (1968) sowie Anleitung und Gerät der Firma Canalco zur Verfügung.

1. Die mit Chromschwefelsäure gereinigten Gel-Röhrchen werden mit Aqua dest. gespült, darauf für einige Minuten in eine 1%-ige Column Coat der Firma Canalco gelegt und an der Luft getrocknet.
2. Die an beiden Enden offenen Gel-Röhrchen werden in den Gelzubereitungsständer eingesetzt und dabei an der Unterseite mit Parafilm verschlossen.
3. Die nach dem oben angegebenen Verhältnis frisch angesetzte Trenngellösung wird bis zu einer 40 mm Marke in die Röhrchen eingefüllt. Dieser Arbeitsgang wird mit einer 10 ml-Spritze mit aufgesetztem Polyäthylenschlauch unter Vermeidung von Luftblasen durchgeführt.

4. Die Trenngellösung wird vorsichtig mit Wasser überschichtet, um eine Meniskusbildung des Gels zu vermeiden. Man benutzt zu diesem Arbeitsgang eine Tuberkulinspritze.
5. Es erfolgt eine Polymerisation unter UV-Licht von 60 min Dauer.
6. Nach der Polymerisation wird das überschichtete Wasser mit Filterpapierstreifen vorsichtig abgesaugt.
7. Im Falle der sauren Phosphatase erfolgt nun die Zubereitung der Sammelgellösung, anschließend wird eine 10 mm hohe Schicht über das Trenngel polymerisiert. Dauer der Gelierung : 60 min.
8. Nach diesem Arbeitsgang wird die Substanzlösung, deren Zubereitung oben beschrieben wurde, mit einer Pipette auf die Gele aufgetragen.
9. Die so präparierten Gel-Röhrchen werden in den Elektrophoresetopf eingesetzt.
10. Nach Einfüllen des Ober- und Unterpuffers (5° C) werden dem Oberpuffer 2 ml Bromphenolblaulösung, im Falle der sauren Phosphatase Methylenblaulösung, zugesetzt, die den zu trennenden Isoenzymen als Bande vorauswandert und so nach Durchlaufen des Röhrchens das Ende der Elektrophorese angibt.
11. Die so ermittelte durchschnittliche Dauer der Elektrophorese betrug bei der LDH 80 min, bei

der sauren Phosphatase 90 min unter einer Klemmspannung von jeweils 300 V und einer Stromstärke von 2,5 mA pro Röhrchen.

12. Am Ende der Elektrophorese werden die Röhrchen dem Elektrophoresetopf entnommen. Eine Spritze mit aufgesetzter, abgestumpfter Stahlnadel dient dazu, die Gele aus dem Röhrchen zu entfernen.
13. Die so entfernten Gele werden in Inkubationsröhrchen eingesetzt und mit jeweils 2 ml Inkubationslösung sofort inkubiert. Die Dauer der Inkubation beträgt bei der LDH 20 min, bei der sauren Phosphatase 30 min bei 5° C, ab dem 25. Lebenstag 120 min. In dieser Zeit färben sich die in Isoenzyme aufgetrennten Enzyme als Banden an.
14. Die Inkubationszeit wird beendet durch zweiminütiges Spülen unter fließendem Wasser und Einlagerung der Gele in mit 7,5%-iger Essigsäure gefüllte Reagenzgläser, die mit Korken verschlossen werden. Auf diese Weise können die Gele über Monate gelagert werden.
15. Die densitometrische Auswertung erfolgt am nächsten Tag mit dem Densitometer-Modell G der Firma Canalco.

III. Eigene Ergebnisse:

Pro Altersstufe wurden von jedem Darmabschnitt je 9 discelektrophoretische Trennungen durchgeführt und densitometrisch aufgezeichnet.

Es fanden sich folgende Ergebnisse:

1) Saure Phosphatase

Duodenum

Vom 1. bis 20. Tag einschließlich läßt sich eine Isoenzymbande nachweisen. Am 25. Lebenstag, beim 3 Monate alten und beim 18 Monate alten Tier, lassen sich drei Isoenzyme darstellen.

Die Aktivität des Isoenzymns nimmt vom 1. bis zum 15. Tag leicht ab und steigt am 20. Tag wieder geringfügig an. Mit dem Auftreten der drei Isoenzyme am 25. Tag fällt die Aktivität der Isoenzyme stark ab, so daß die Inkubationszeit auf zwei Stunden verlängert werden mußte.

Während sich am 25. Tag die drei Isoenzymbanden nur in ihrer Breite, nicht aber in ihrer Farbinintensität unterscheiden, fällt beim erwachsenen Tier ein Aktivitätsanstieg gegen das Isoenzym 3 auf. Beim 18 Monate alten Tier kehrt sich dieser Aktivitätsanstieg um, d.h. die Aktivität der ersten Bande steigt an (Abb. 1, Abb. 2).

Ileum

Im Ileum läßt sich vom 1. Lebenstag bis zum

18 Monate alten Tier jeweils nur ein Isoenzym darstellen.

Die Breite, sowie die Intensität der Bande, nimmt vom 1. bis zum 25. Tag kontinuierlich ab, steigt beim erwachsenen Tier leicht an und ist beim 18 Monate alten Tier nur noch schwach zu verzeichnen.

Die Inkubationszeit betrug wie beim Duodenum ab dem 25. Lebenstag 2 Stunden. (Abb. 3 und 4).

Colon

Im Colon läßt sich nur am 1. Lebenstag der Ratte ein Isoenzym nachweisen. (Abb. 5 und 6).

Vergleich der verschiedenen Darmabschnitte

Während vom 1. bis zum 20. Tag die stärkste Enzymaktivität im Ileum auftritt, verlagert sie sich vom 25. Tag an ins Duodenum, dabei fällt die Gesamtaktivität jedoch steil ab. Die Aktivität des Isoenzym im Colon, die am 1. Lebenstag schon schwächer ist, als am gleichen Tag im Duodenum, ist am 10. Tag nicht mehr nachweisbar.

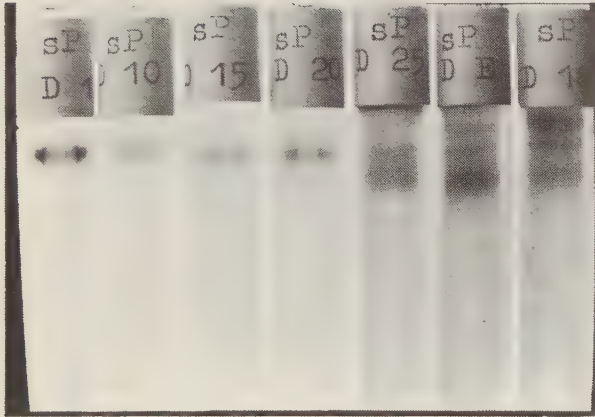


Abb. 1: Saure Phosphatase:

Duodenum 1.Tag bis 18 Monate, zeigt das Enzym-
muster der sauren Phosphatase im Duodenum in
folgenden Altersstufen: 1., 10., 15., 20. und
25. Tag; 3. und 18. Monat

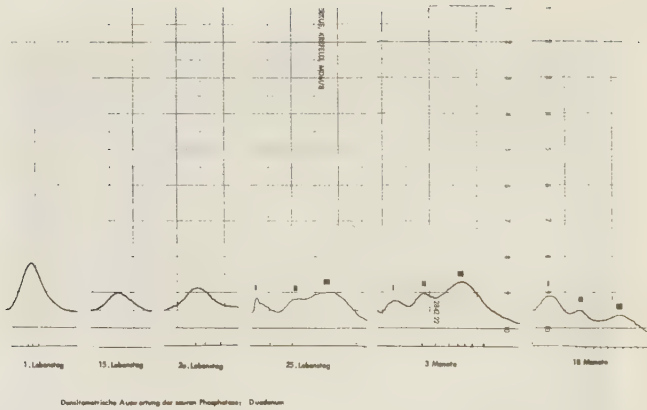


Abb. 2: Densitometrische Aufzeichnung des Enzymmusters der sauren Phosphatase am 1., 15., 20. und 25. Lebenstag sowie beim 3 und 18 Monate alten Tier im Duodenum; beim Vergleich muß die um 90 min verlängerte Inkubationszeit ab dem 25. Lebenstag berücksichtigt werden.

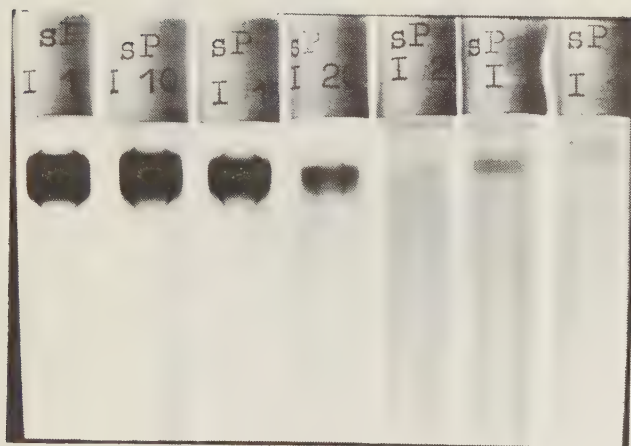


Abb. 3: Enzymmuster der sauren Phosphatase im Ileum
am 1., 10., 15., 20. und 25. Lebenstag sowie beim
3 Monate und 18 Monate alten Tiere.

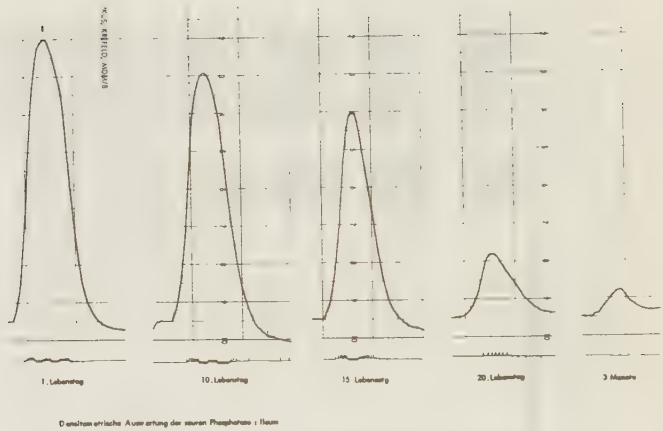


Abb. 4: Densitometrische Aufzeichnung des Enzymmusters der sauren Phosphatase im Ileum am 1., 10., 15. und 20. Lebenstag und beim 3 Monate alten Tier.



Abb. 5: Enzymmuster der sauren Phosphatase im Colon
ascendens am 1. und 10. Lebenstag.



Abb. 6: Densitometrische Aufzeichnung des Enzymmusters der sauren Phosphatase im Colon ascendens am 1. und 10. Lebenstag.

2. Lactatdehydrogenase

Bei der Beschreibung der Ergebnisse wurde die europäische Nomenklatur zur Beschreibung der Isoenzyme benutzt, die am gebräuchlichsten ist. (Louderback und Shanbrom, 1968).

Dabei wurden die Banden von der Anode bis zur Kathode mit LDH₁ bis LDH₅ bezeichnet.

Duodenum:

Bei der disclektrophoretischen Trennung stellen sich im Duodenum vom 1. Lebenstag bis zum 18 Monate alten Tier 5 Isoenzyme dar. Am 1. Lebenstag lassen sich LDH₅ und LDH₄ sehr stark nachweisen, im Gegensatz zu den schneller zur Anode hinwandernden Isoenzyme, die sich nur sehr schwach darstellen. Am 10. Lebenstag und bei den übrigen Altersstufen fällt die LDH₅ auffallend ab und ist bei den einzelnen Altersstufen nur geringen Schwankungen unterworfen, ebenso wie die LDH₄, deren Aktivität allerdings gegenüber dem 1. Lebenstag zunimmt. Die schneller zur Anode wandernden Isoenzyme LDH₃, LDH₂ und LDH₁ erfahren gegenüber dem 1. Lebenstag bei den übrigen untersuchten Altersstufen einen nahezu gleich starken Aktivitätsanstieg. (Abb. 7, 8 und 9).

Ileum

Im Ileum wurden ebenfalls an allen Lebenstagen 5 Isoenzyme aufgetrennt. Auffallend ist der starke Aktivitätsabfall der, der Kathode nahestehenden, LDH_5 und LDH_4 bei allen untersuchten Altersstufen gegenüber dem ersten Lebenstag, ausgenommen einer relativ hohen Aktivität der LDH_4 beim 3 Monate alten Tier. Die schneller zur Anode wandernden LDH_3 und LDH_2 zeigen am 1. Lebenstag der Ratte nur eine geringe Aktivität, LDH_1 war nur ganz schwach nachzuweisen und die Empfindlichkeit des Densitometers reichte nicht aus, um die Bande zu schreiben.

Beim 3 Monate alten Tier findet sich im Vergleich zu den übrigen Altersstufen eine höhere Aktivität der LDH_3 und LDH_2 . Insgesamt ist auch bei diesem Darmabschnitt ein Aktivitätsanstieg der schneller zur Anode hinwandernden Isoenzyme an den anderen Tagen gegenüber dem 1. Lebenstag zu verzeichnen. (Abb. 10, 11 und 12).

Colon ascendens

Auch im Colon ascendens lassen sich 5 Isoenzyme nachweisen. Ein Aktivitätsabfall der LDH_5 und LDH_4 im Bezug auf den ersten Lebenstag stellt sich bei allen anderen Altersstufen dar. Die LDH_1 läßt sich am ersten Lebenstag der Ratte nur schwach auftrennen, allerdings stärker als im Ileum.

Der Aktivitätsanstieg der anodischen Isoenzyme ist hier nicht so ausgeprägt, wie in den anderen Darmabschnitten. Die im Vergleich besonders hohe Aktivität von LDH_3 , LDH_2 und LDH_1 am 10. Lebenstag, sowie die geringere Aktivität von LDH_3 , LDH_2 und LDH_1 am 25. Lebenstag fällt auf. (Abb. 13, 14 und 15).

Vergleich der einzelnen Darmabschnitte

In allen drei Darmabschnitten lassen sich fünf Isoenzyme auftrennen. Der starke Aktivitätsabfall der kathodischen Isoenzyme LDH_5 und LDH_4 gegenüber dem 1. Lebenstag ist bei allen untersuchten Altersabschnitten vorhanden, ausgenommen der LDH_4 im Duodenum. Die Aktivitätszunahme der anodischen Isoenzyme gegenüber dem ersten Lebenstag ist in allen Darmabschnitten vorhanden. Insgesamt besteht ein kranio-kaudales Gefälle der Gesamtaktivität der Laktatdehydrogenase vom Duodenum zum Colon.

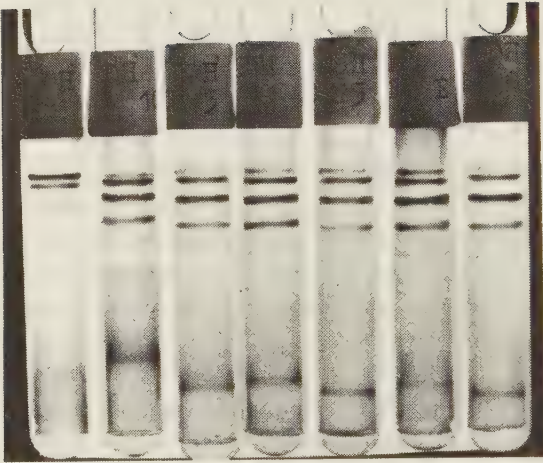
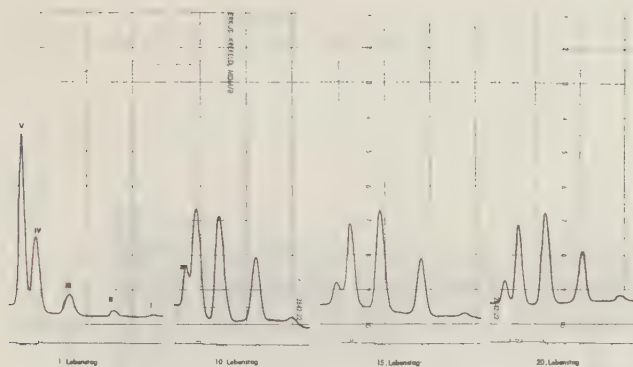
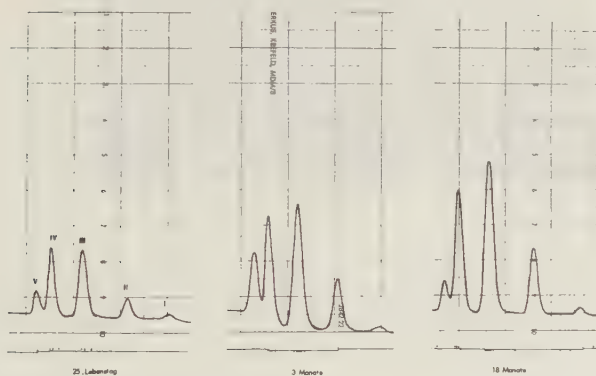


Abb. 7: Enzymmuster der Laktatdehydrogenase im Duodenum zu folgenden Altersstufen: 1., 10., 15., 20. und 25. Tag, 3. und 18. Monat.

In dieser und allen folgenden Abbildungen liegt die Kathode und der Startpunkt am Kopf des Bildes; Die Wanderung vollzieht sich zur Anode am anderen Bildrand.



Densitometrische Auswertung der Laktatdehydrogenase: Duodenum



Densitometrische Auswertung der Laktatdehydrogenase: Duodenum

Abb. 8 und 9: Densitometrische Aufzeichnung des Enzymmusters der Laktatdehydrogenase im Duodenum folgender Altersstufen: 1., 10., 15., 20. und 25. Tag, 3. und 18. Monat. Die römischen Ziffern beziehen sich auf die Isoenzyme LDH_1 bis LDH_5 .

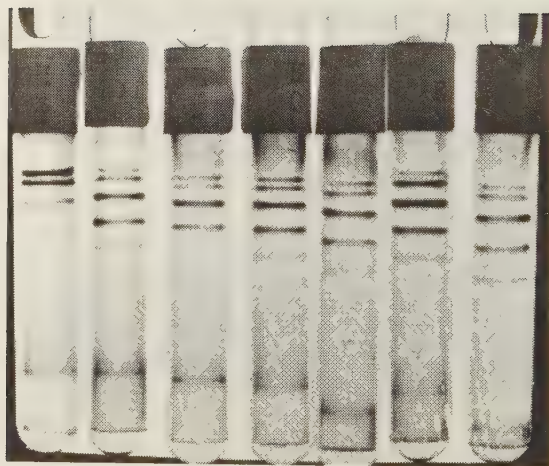


Abb. 10: Enzymmuster der Laktatdehydrogenase im Ileum
folgender Altersstufen: 1., 10., 15., 20.
und 25. Tag, 3. und 18. Monat.

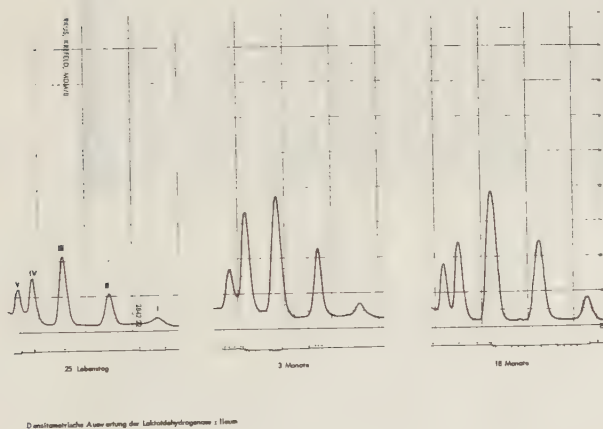
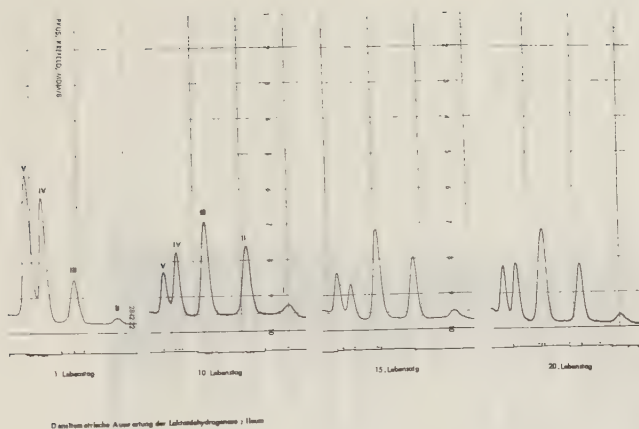


Abb. 11 und 12: Densitometrische Aufzeichnung des Enzymmusters der Laktatdehydrogenase im Ileum folgender Altersstufen: 1., 10., 15., 20. und 25. Tag, 3. und 18. Monat.

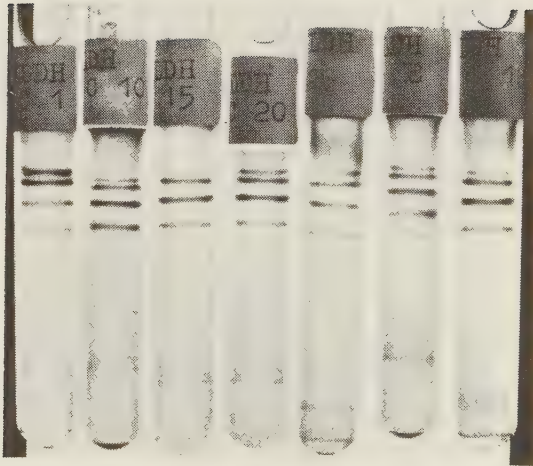
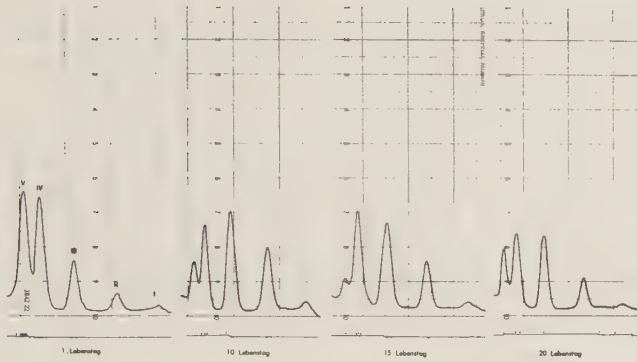
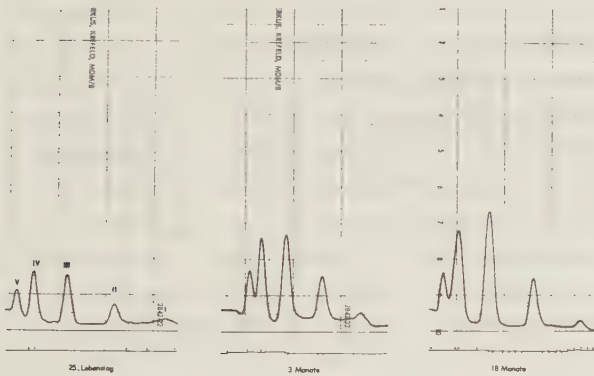


Abb. 13: Enzymmuster der Laktatdehydrogenase im Colon
ascendens folgender Altersstufen: 1., 10., 15.,
20. und 25. Tag, 3. und 18. Monat.



Densitometrische Auswertung der Laktatdehydrogenase (Colon)



Densitometrische Auswertung der Laktatdehydrogenase (Colon)

Abb. 14 und 15: Densitometrische Aufzeichnung des Enzym-
musters der Laktatdehydrogenase im Colon
ascendens folgender Altersabschnitte:
1., 10., 15., 20. und 25. Tag, 3. und 18.
Monat.

IV. DISKUSSION

Histochemische Untersuchungsmethoden und die Polyacrylamid-Discelektrophorese eignen sich dazu, enzymatische Differenzierungen von Organen zu registrieren. Mit beiden Methoden sind nur bedingt quantitative Aussagen möglich. Bei der Histochemie steht die topochemische Verteilung des Enzyms im Vordergrund, wogegen bei der Discelektrophorese die qualitative Aussage und die Auftrennung des Isoenzymmusters im Vordergrund stehen.

Nach Vollrath (1969), Höhn und Schäfer (1972) läßt sich der enzymchemische Differenzierungsprozess des Rattendarms postnatal in 4 Abschnitte unterteilen: die postnatale Phase vom 1. Lebenstag bis zum Ende der zweiten Lebenswoche, die Adaptationsphase vom Beginn der 3. Lebenswoche bis zur Mitte der 4. Woche, der adulte Reifezustand ab der Mitte der 4. Lebenswoche und das Greisenalter.

In der postnatalen Phase findet sich in allen drei untersuchten Darmabschnitten ein Aktivitätsabfall der LDH-5 und der LDH-4 mit Ausnahme der LDH-4 im Duodenum, deren Aktivität noch gegenüber dem ersten Lebenstag zunimmt. Eine geringe Aktivitätszunahme der anodischen Isoenzyme ist in allen drei Darmabschnitten zu verzeichnen, besonders jedoch im Duodenum. Auch mit Hilfe histochemischer Methoden ist ein

Aktivitätsabfall in sämtlichen Darmabschnitten während dieser Phase nachzuweisen; und zwar anhand der Formazangranula innerhalb der Enterozyten, die zu dieser Zeit keine feste Lokalisation aufweisen, sondern diffus im Plasma verteilt sind (Höhn und Schäfer, 1972). Während mit dieser Nachweismethode der LDH nur die Gesamtaktivität nachgewiesen wird, läßt die disc-elektrophoretische Auftrennung erkennen, welche Isoenzyme diesen Aktivitätsabfall beeinflussen. Die Aktivitätszunahme der anodischen Isoenzyme LDH-3, LDH-2 und LDH-1 gegenüber dem ersten Lebenstag der Ratte ist in allen Darmabschnitten nachzuweisen. Diese Zunahme ist jedoch zu gering, um die Gesamtaktivität wesentlich zu beeinflussen.

Die meisten Organe der Ratte zeigen in der embryonalen Phase, sowie kurz nach der Geburt, ein Vorherrschen der zur Kathode wandernden Isoenzyme LDH-5 und LDH-4. Im Laufe des Entwicklungsprozesses verschiebt sich dieses Muster in Richtung auf die LDH-1 zum anodischen Ende (Singh und Kanungo 1968, Fine, Kaplan und Kuf-tinec, 1963). Gleiche Ergebnisse beim Wechsel des Organmusters der Isoenzyme im Rahmen der Entwicklung erzielen Karlsson (1968) bei der Untersuchung von Organen des Schweins, Markert und Ursprung (1962) mit Hilfe der Stärkegelelektrophorese bei Organen der Maus und Kos-kiemies (1967) bei Gewebekulturen von Tubuluszellen der Mäuseniere. Dieser Wechsel in der Zusammensetzung der LDH während der Organentwicklung

wird zweifellos durch analoge Umwelteinflüsse beeinflusst (Allen 1961). So kommt es nach der Geburt zu einer Umstellung des Organismus auf aerobe Stoffwechselbedingungen. LDH-1 ist vorherrschend in Geweben mit hoher Sauerstoffversorgung, wogegen die LDH-5 in stärkerem Maße in Geweben vorhanden ist, die anaeroben Bedingungen ausgesetzt sind (Markert und Ursprung, 1962; Matsuzawa und Takikowa, 1968). Es ist jedoch möglich, daß diese Regulation der Synthese der Untereinheiten nicht durch den Sauerstoffpartialdruck direkt, sondern unmittelbar durch Pyruvat verursacht wird (Hellung-Larsen, 1968).

Interessant in diesem Zusammenhang ist, daß sich in maligne entarteten Geweben ein Wechsel im Isoenzymmuster der LDH in Richtung auf die LDH-5 vollzieht. Dieses Ergebnis zeigen Untersuchungen von Poznanska-Linde und Mitarbeiter (1966) bei Lymphknotentumoren und Langvad (1968) bei Colontumoren. Eine Erklärung für diese Änderung in Richtung postnataler Enzymmuster kann die vorherrschende anaerobe Stoffwechsellage der meisten Tumoren sein (Wolff, 1969).

Die Aktivitätszunahme der LDH-4 im Duodenum nach dem ersten Lebenstag, sowie der gegenüber den übrigen Darmabschnitten stärkere Anstieg der anodischen Isoenzyme, mag mit den besonderen resorptiven und sekretorischen Gegebenheiten im Duodenum zusammenhängen. Die besonders hohe Aktivität der LDH-4 könnte auf einen höheren Prozentsatz in der Muskulatur des Duodenums als in der übrigen Darmmuskulatur zurückgeführt werden.

Im Colon ist die Aktivität der Isoenzyme bis zum 20. Lebenstag relativ stark und fällt nach dem 20. Tag rapide ab. Dieser Befund spricht für eine Resorption von Nahrungsbestandteilen bis hinab zum Colon ascendens (Masnerová und Mitarbeiter, 1966; Williams und Beck, 1969a; Schäfer und Höhn, 1971). Bei der Präparation der Därme zeigte sich auch, daß Dünndarm und Colon ascendens bis zu diesem Zeitpunkt immer prall mit Muttermilch gefüllt waren.

In der Adaptationsphase der Schleimhautdifferenzierung vom 15. Lebenstag bis zur 4. Lebenswoche erfolgt die endgültige Angleichung an das Enzymmuster erwachsener Tiere. In diesem Stadium nehmen die Jungtiere in steigendem Maße Trockenfutter zu sich. In diesem Zeitraum läßt sich sowohl mit Hilfe der Discelektrophorese, als auch mit Hilfe der Histochemie ein Aktivitätsanstieg der LDH im Duodenum verzeichnen, mit intrazellulärer Umverteilung der Formazangranula, die eine Schichtung mit Abnahme von apikal nach basal erkennen lassen. Mit dem 20. Tag ändert sich das Enzymmuster in allen drei untersuchten Darmabschnitten nicht mehr. Die relativ schwache Aktivität der Isoenzymbande aller drei Darmabschnitte am 25. Tag in Bezug zu den untersuchten angrenzenden Altersabschnitten, mag an einem methodischen Fehler während dieses Versuchstages liegen und es wäre falsch, diesem Ergebnis große Bedeutung zuzumessen, da

auch die histochemischen Ergebnisse zeigen, daß der adulte Reifezustand der Rattendarmschleimhaut in der Mitte der 4. Lebenswoche erreicht ist. Dieser Zeitpunkt scheint genetisch fixiert zu sein (Höhn und Schäfer, 1972), da zu diesem Zeitpunkt auch die Chemodifferenzierung anderer Organe der Ratte abgeschlossen ist, so zum Beispiel die der Leber (Kóúdstaal und Hardonk, 1970), des Herzens (Toth und Schiebler, 1967), des Rückenmarks und der Spinalganglien (Sarrat, 1970). Das deutliche kranio-kaudale Aktivitätsgefälle der LDH vom Duodenum bis zum Colon kommt bei beiden Untersuchungsmethoden gleichwertig zum Ausdruck.

Um das Enzymmuster der LDH im Rattendarm während des Greisenalters zu untersuchen, wurden 18 Monate alte Ratten verwandt, die auch nach Singh und Kanúngo (1968) die Altersphase der Ratten verkörpern. Bei dieser Altersstufe zeigt sich nur im Ileum ein starker Aktivitätsabfall aller Isoenzyme im Vergleich zum drei Monate alten Tier. Der scheinbare Aktivitätsabfall im Duodenum wird nur durch eine schwächere Farbreaktion vortäuscht, was an der deutlich geringeren Grundfärbung des Zymogramms ersichtlich ist. Im Colon läßt sich kein Aktivitätsunterschied nachweisen. In einer Studie von Kanungo und Singh (1965), die das Herz und Gehirn von Ratten unterschiedlicher Altersstufen untersuchten, nahm die Menge der LDH-5 nach dem Erwachsenenalter deutlich ab, und zwar am stärksten im Herzmuskel. Schmukler und Mitarbeiter (1967) zweifelten an der Genauigkeit der Methode dieser beiden Autoren. Sie konnten

im Vergleich zu 12 Monate alten und 24 Monate alten Ratten keine qualitativen oder quantitativen Unterschiede der LDH-Aktivität nachweisen.

Die Steuerung der enzymatischen Anpassungsvorgänge scheint bei der LDH nicht durch hormonale oder zentrale Mechanismen ausgelöst zu werden, sondern hauptsächlich durch das Einwirken des unmittelbaren Stoffwechsellmilieus. Man muß wohl mit Hellung-Larsen (1968) der Hypothese zustimmen, daß die Synthese der H-Untereinheiten (LDH-1) in Geweben mit aerober Stoffwechsella^{begünstigt}ge wird, wogegen die M-Untereinheiten-Synthese (LDH-5) in Geweben mit anaerober Stoffwechsella^{ge}ge dominiert. Auch Kanungo und Singh (1965), die ein Abfallen der M-LDH in der Muskulatur alter Ratten nachweisen, erklären, daß diese Änderung wahrscheinlich durch unmittelbare Stoffwechseleinflüsse hervorgerufen werden kann. In diesem Fall durch Milchsäure, als Endprodukt der anaeroben Glykolyse, die mit zunehmender Einwirkungsdauer eine Repression des M-spezifischen Gens bewirken könnte.

In der postnatalen Phase findet sich vom Duodenum bis zum Colon ascendens nur eine Aktivitätsbande der sauren Phosphatase (s.Ph.). Die größte Aktivität des Enzyms befindet sich während dieser Zeit im Ileum; dies zeigt sowohl die discelektrophoretische, wie die histochemische Untersuchung. Die starke Aktivität findet sich topochemisch in großen supranukleär gelegenen Granula der Enterozyten. Diese supranukleär gelegenen Riesenvakuolen (Cornell und Padykúla, 1965; Höhn und

Mitarbeiter, 1973; Wissig und Graney, 1968; Graney, 1968) mit ihren sauren Hydrolasen können nach^{de} Duve (1963) als "digestives System" bezeichnet werden. So zeigten zahlreiche Untersuchungen, daß die Oberflächenepithelien des Darms neugeborener und foetaler Ratten befähigt sind, Makromoleküle durch Pinozytose aufzunehmen (Clark, 1959; Straus, 1965; Orlic und Lev, 1973). Dabei handelt es sich nicht um einen selektiven Prozess. Während Immunglobuline jedoch unverändert in die Blutbahn transportiert werden können (Rodewald, 1970), werden andere Proteine zum größten Teil in den Oberflächenepithelien abgebaut (Morris 1965; Bamford 1966; Pierce und Smith, 1967a und b) und zwar in den beschriebenen lysosomalen Strukturen.

Eine geringe Aktivitätsabnahme der s.Ph. in den ersten Lebenstagen im Duodenum und Aktivitätsanstieg gegen Ende der zweiten Lebenswoche kommt bei beiden Untersuchungsmethoden zum Ausdruck. Im Colon ascendens läßt sich mit Hilfe der Elektrophorese nur am ersten Lebenstag der Ratte eine Aktivität der sauren Phosphatase nachweisen, im Gegensatz zur histochemischen Untersuchungsmethode, bei der sich bis zum 15. Tag ein Enzymnachweis führen läßt. Die Aktivität der s.Ph. im Colon mag mit der bis ins Colon ascendens vorhandenen Nahrungsresorption während dieses Altersabschnittes zusammenhängen.

Während der Adaptationsphase kommt es zu einer Umverteilung des Enzymmusters im Duodenum und im

Ileum. Die enzymhistochemische Untersuchung zeigt, daß sich dieser Wechsel im Falle der s.Ph. vom 17. bis zum 23. Lebenstag vollzieht. Die hohe Aktivität der s.Ph. in den Enterozyten des Ileums der ersten beiden Lebenswochen fällt steil ab und läßt sich nach dem 23. Lebenstag nicht mehr nachweisen. Im Zymogramm zeigt die Fraktion der s.Ph. am 20. Lebenstag einen starken Aktivitätsschwund gegenüber den vorangegangenen Altersabschnitten. Ebenso kennzeichnet die ab dem 25. Tag stark verlängerte Inkubationszeit den mit beiden Methoden nachgewiesenen Aktivitätsschwund.

Bemerkenswert ist der starke Aktivitätsverlust im Duodenum mit dem Auftreten der drei Enzymfraktionen gegen Ende der Adaptationsphase. Dieses Ergebnis widerspricht den histochemischen Untersuchungen, bei denen sich ein Aktivitätsanstieg im Duodenum während dieser Zeit fand. Ähnliche Ergebnisse fanden sich bei der alkalischen Phosphatase (Gabbert, 1973), der diese drei Enzymbanden als "neue Formen" der alkalischen Phosphatase postuliert.

Diese scheinbar widersprüchlichen Befunde lassen sich durch neue Untersuchungen deuten. So fanden Hynie und Zbarsky (1973), daß die Hauptaktivität der a.Ph. im Epithel des Jejunums neugeborener Ratten als gelöste, bzw. von intrazellulären Strukturen leicht abspaltbare Komponenten vorhanden ist. Während der zunehmenden Ausreifung

wird ein größerer Prozentsatz der Aktivität der a.Ph. fester an die Strukturen der Epithelzellen gebunden. Hierdurch tritt eine Änderung im Verhältnis von Lyo- zu Desmoenzym ein, die mit histochemischen und elektrophoretischen Methoden in unterschiedlichem Ausmaß erfaßt wird (Gabbert, 1973; Höhn und Mitarbeiter, 1973).

Um eine Erklärung für das Auftreten der neuen Enzymfraktionen der s.Ph. zu finden, liegt der Vergleich mit den Untersuchungen über die a.Ph. nahe. Da durch eine Hemmung der Proteinsynthese bei der a.Ph. der Aktivitätsanstieg und damit das Auftreten der neuen Enzymfraktion der a.Ph. nicht verhindert wird, kann es sich bei diesem Prozeß nicht um eine novo-Synthese handeln, sondern um eine Transformation bzw. Aktivierung praeexistenter Moleküle (Fieldhouse und Masters, 1966; Kitto und Mitarbeiter, 1966; Papaconstantinou, 1967; Moog und Grey, 1968; Etzler und Moog, 1968b). Ähnliche Untersuchungen sind im Falle der s.Ph. zu fordern.

Mit dem 25. Lebenstag ist der adulte Reifezustand erreicht. Die drei Enzymfraktionen der s.Ph. lassen sich auch beim 18 Monate alten Tier nachweisen, die Enzymaktivität zeigt ein stark kranio-kaudales Aktivitätsgefälle, was auch mit der histochemischen Methode zum Ausdruck kommt.

Zur Deutung des Aktivitätsanstieges innerhalb der drei Enzymfraktionen beim erwachsenen Tier, sowie zur Deutung der Umkehr dieser Aktivitätsunterschiede

bei den senilen Ratten sind weitere Untersuchungen notwendig, wobei vor allem auch die Frage, wie sich die disk-elektrophoretisch auftrennbaren Enzymfraktionen der s.Ph. in ihrer physikochemischen Eigenschaften unterscheiden, angeschnitten werden muß.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Mit Hilfe der Polyacrylamid Disk-Elektrophorese wurde die postnatale Differenzierung des Enzymmusters der Laktatdehydrogenase und sauren Phosphatase im Duodenum, unterem Ileum und Colon ascendens von einem Tag, 10 Tage, 15 Tage, 20 Tage, 3 Monate und 18 Monate alten männlichen Ratten untersucht.

Im Duodenum stellte sich vom 1. bis zum 20. Tag die saure Phosphatase in Form einer Enzymbande dar, vom 25. Tag an in Form von drei Enzymbanden. Im Ileum läßt sich bei allen untersuchten Lebensabschnitten nur eine Enzymbande nachweisen. Im Colon ließ sich nur am 1. Lebenstag eine Enzymbande darstellen. Nach dem 25. Lebenstag verlagert sich die Hauptaktivität des Enzyms vom Ileum ins Duodenum, dabei fällt die Gesamtaktivität steil ab.

Das Enzymmuster der Laktatdehydrogenase zeigt bei allen untersuchten Altersstufen und Darmabschnitten fünf Isoenzyme.

Die erhaltenen Ergebnisse wurden anhand elektrophoretischer sowie vergleichend histochemischer Untersuchungen diskutiert.

VI. LITERATURVERZEICHNIS

1. ALCORN, S. and
H. MAISEL: The Ontogeny of lactate dehydrogenase
in the chick cornea.
J. Exp. Zool. 165, 309-316 (1967)
2. ALLEN, J.M.: Multiple forms of LDH in tissues of
the mouse: their specificity, cellular
localisation and response to altered
physiological conditions.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 94, 937-951 (1961)
3. APPELLA, E. and
MARKERT, C.L.: Dissociation of lactate dehydrogenase
into subunits with guanidine hydrochloride.
Biochem. Biophys. Res. Commun. 6, 171-
176 (1961)
4. BABA, N. and
SHARMA, H.M.: Histochemistry of latic dehydrogenase
in heart and pectoralis muscel of rat.
Journal of Cell Biology 51. 621-635
(1971)
5. BAMFORD, D.R.: Studies in vitro of the passage of
serum proteins across the intestinal
wall of young rats.
Proc. Roy. Soc. Serb. B. 166, 30-45 (1966)
6. BARKA, T.: Electron histochemical localization of
acid phosphatase activity in the small
intestine of mouse.
J. Histochem. Cytochem. 12, 229-238
(1964)
7. BARKA, T. and
ANDERSON, P.J.: Histochemistry: Theory, Practice and
Bibliography.
New York 1963, 242-244

8. BAXTER-GRILLO, D.L.: Enzym histochemistry and hormones of the developing gastrointestinal tract of the chick embryo. IV. The enzym activity during functional differentiation.
Histochemie 21, 268-276 (1970)
9. BEADLE, D.J. et al: Ultrastructural localization of acid phosphatase, non-specific esterase and β -glucuronidase in the midgut epithelium of tenebrio molitor Schistocerca gregoria and Carausius morosus.
Histochemie 28, 243-249 (1972)
10. BEHNKE, M.: Demonstration of acid phosphatase containing granules and cytoplasmic bodies in the epithelium of foetal rat duodenum during certain stages of differentiation.
J.Cell.Biol. 18, 251-265 (1963)
11. BURICH, R.L. et al.: Age and sex differences in latic and malic acid dehydrogenases in the C 57 BL/6 mouse liver.
J. of Gerontology 23, 180-182 (1968)
12. CAHN, R. et al.: Nature and development of latic dehydrogenases.
Science 136, 962-969 (1962)
13. CLARK, J.S.L.: The ingestion of protein colloidal materials by columnar absorptive cells of the small intestine in suckling rats and mice.
J.Biophys.Biochem. 5, 41-50 (1959)
14. CORNELL, R. and PADYKULA, A.: A cytochemical study of intestinal absorption in the postnatal rat.
Anat.Rec. 151, 339 (1965)

15. DAVIS, B.J.: Disc-electrophoresis II Method and application to human serum proteins.
Ann.N.Y.Acad.Sci. 121, 404-427 (1964/65)
16. DE DOMENECH, E.M. et al.: Distribution of lactate dehydrogenase isoenzymes in subcellular fractions of the rat tissues.
Archives of Biochemistry and Biophysics 141, 147-154 (1970)
17. DE DUVE, C.: From cytochromes to lysosomes
Fedn.Proc. 23, 1045-1049 (1964)
18. DE DUVE, C.: The lysosome
Sci.Amer. 156, 2-10 (1963)
19. DIETZ, A.A.,
LUBRANO, T. et al.: Discelektrophoresis of lactate dehydrogenase isoenzymes
Clin.Chin.Acta 27, 225-232 (1970)
20. DIETZ, A.A. and
LUBRANO, T.: Separation and quantitation of lactic dehydrogenase isoenzymes by disc-electrophoresis.
Analytical Biochemistry 20, 246-257 (1967)
21. EMANUELLI, G. et al.: Emploi de la disc-électrophorèse pour la détermination des isoenzymes de la laticodéshydrogénase et de la malicodéshydrogénase.
Schweiz.med.Wschr. 100, 1026-1028 (1970)
22. EMABUELLI, G. et al.: Lysosomal damage and its possible relationship with mitochondrial lesion in rat kidney under obstructive jaundice
Clin.Chin.Acta 25, 167-172 (1969)

23. ETZLER, M.E. and
MOOG, F.: Biochemical identification and
characterization of the multiple
forms of alkaline phosphatase in
the developing duodenum of the
mouse.
Develop.Biol. 18, 515-535 (1968)
24. EVERSE, J. and
KAPLAN, N.O.: Lactate dehydrogenases:
Structure and function.
Advances in Enzymology. New York:
John Willy and sons 1973
25. FARROR, W. and
BUSH, F.M.: Isozymic structure and pyruvat in-
hibition of lactate dehydrogenase
of ventricle, pectoralis muscle and
cerebrum and total LDH activity of
cerebrum during morphogenesis of the
house sparrow, passer domesticus.
Comp.Biochem.Physiol. 29, 89-108
(1969)
26. FIELDHOUSE, B. and
MASTERS, C.J.: Developmental redistribution of por-
cine lactate dehydrogenase.
Biochem.Biophys.Acta 118, 538-548
(1966)
27. FINE, J.H. et al.: Developmental changes of mammalian
latic dehydrogenases.
Biochemistry 2, 116-121 (1963)
28. FRANCESCONI, R.P. and
VILLEE, C.A.: Lactate dehydrogenase isoenzymes
in human and rat fetal liver and
lung.
Life Science 8, 33-37 (1969)
29. GABBERT, H.: Disk-elktrophoretische Untersuchungen
zur postnatalen Differenzierung des
Enzymmusters der alkalischen Phos-
phatase und Malatdehydrogenase im
Darm der Ratte.
Med.Diss. Mainz 1973

30. GOLDBERG, E.: Lactate dehydrogenase and malate dehydrogenase in sperm: Studied by polyacrylamid gel elektrophoresis.
Annals N.Y. Acad.Sci. 121, 560-570 (1964)
- 31 GOLDBERG, E.: Latic and malic dehydrogenases in human spermatozoa.
Science 139, 602-603 (1963)
32. GOLDBERG, E. and CATHER, J.N.: Molecular heterogenity of latic dehydrogenase during development of the snail *Argobuccinum oregonense* Redfield.
J.Cellular.Comp.Physiol. 61, 31-38 (1963a)
33. GRANEY, D.O.: The uptake of ferritin by ileal absorption cells in suckling rats. An elektron microscop study.
Am.J.Anat. 123, 227-238 (1968)
34. GROG, E.; PEARSE, A.G.E.: A critical study of histochemical techniques for acid phosphatases.
J.Path.Bact. 64, 627 (1952)
35. HELLUNG-LARSEN, P.: Developmental changes in lactat dehydrogenase isoenzym patterns of rabbit tissues.
Acta chem.Scand. 22, 355-358 (1968)
36. HÖHN, P. et al.: Disk-elektrophoretische Differenzierung saurer Phosphatasen verschiedener Herkunft.
Z.Rechtsmedizin 68, 129-137 (1971)
37. HÖHN, P. und SCHÄFER, A.: Verteilungsmuster von Enzymaktivitäten im Darm der Ratte in verschiedenen Lebensabschnitten.
Act. geron. 2, 331-343 (1972)

38. HÖHN, P.; SCHÄFER, A.;
W.PAASCH und GABBERT, H.:
Vergleichende histochemische und disc-
elektrophoretische Untersuchungen zur
postnatalen Differenzierung der Darm-
schleimhautenzyme.
Verh.Dtsch.Ges.Path. 57, 444 (1973)
39. ASU, L. and TAPPEL, A.L.:
Lysosomal enzymes of rat intestinal
mucosa.
J.Cell Biol. 23, 233-240 (1964)
40. HUGON, J. and
BORGERS, M.:
Fine structural localization of acid
and alkaline phosphatase activities
in the absorbing cells of the duodenum
of rodents.
Histochemie 12, 42-66 (1968)
41. HUGON, J. and
BORGERS, M.:
Fine structural localization of lyso-
somal enzymes in the absorbing cells of
the duodenal mucosa of the mouse. J.
Cell.Biol. 33, 212-218 (1967)
42. HUGON, J.S. and
CHARNEL, C.:
Mouse intestinal sensitivity to cyclo-
hexamide-A morphological cytochemical
and biochemical study.
Histochemie 27, 50-62 (1971)
43. HUNTER, R.L. and
MARKERT, L.:
Histochemical demonstration of enzymes
separated by zone electrophoresis
starch gels.
Science 125, 1294-1295 (1957)
44. HYNIE, I. and
ZBARSKY, S.H.:
Comparative study of the development
of alkaline phosphodiesterase and
alkaline phosphatase in mucosa rat
jejunum and ileum.
Can.J.Biochem. 51, 613-620 (1973)

45. IKEDA, T. et al.: Differentiation of the LDH-isoenzyme in normal and abnormal development of the rat.
Hiroshima Journal of Medical Sciences 18, 13-20 (1969)
46. IWAI, N.: Histochemical studies of small and large bowels, I. Some enzymatic activities of normal human and laboratory animals.
Jap. Arch.Intern.Med. 16, 227-241 (1969)
47. JERVIS, H.R.: Enzymes in the mucosa of the small intestine of the rat, the guinea pig and the rabbit.
J.Histochem.Cytochem. 11, 692-699 (1963)
48. KANUNGO, M.S. and SINGH, S.N.: Effect of age on the isoenzymes of LDH of heart and brain of rats.
Biochem.Biophys.Res.Comm. 21, 454-459 (1965)
49. KAPLAN, N.O. and GIOTTI, M.M.: Evolution and differentiation of dehydrogenases.
Ann.N.Y. Acad.Sci. 24, 701-722 (1961)
50. KAR, N.C. and PEARSON, C.M.: Developmental changes and heterogeneity of latic and malic dehydrogenases of human skeletal muscles and other organs.
Proc.N.A.S. 50, 995-1002 (1963)
51. KARLSSON, B.W.: Latic and malic dehydrogenases activities and isoenzyme-patterns in blood sera of developing neonatal piglets.
Biol.Neonat. 13, 34-52 (1968)
52. KARLSON, P.: Kurzes Lehrbuch der Biochemie
Stuttgart: Georg Thieme Verlag 1967

53. KASCHNITZ, R.: Disk-elektrophoretische Trennung von Isoenzymen der sauren Phosphatase.
Z.Klin.Chem. 1, 126 (1967)
54. KITTO, C.B.;
WASSARMAN, P.M. and
KAFLAN, R.O.: Enzymatically active conformers of mitochondrial malate dehydrogenase.
Proc.Nat.Acad.Sci.U.S. 56, 578-585 (1966)
55. KOSKIMIES, O.: Studies in kidney tubulogenesis, IX. Correlation of lactate dehydrogenase isozyme pattern to tissue organisation
Ann.Med.exp.Fenn. 45, 309-317 (1967)
56. KROUDSTAAL, J. and
HARDONK, A.J.: Histochemical demonstration of enzymes in rat liver during postnatal development. Enzymes related to NADPH-dependent hydroxylating systems and to sex difference.
Histochemie 23, 71-81 (1970)
57. LANE, N.J. and
NOVIKOFF, A.B.: Effects of arginine deprivation, ultraviolet radiation and radiation on cultured KB cells. A cytochemical and ultrastructural study.
J.Cell.Biol. 27, 603-620 (1965)
58. LANGVAD, E.: Lactate dehydrogenase patterns in the tumour-bearing colon.
Int.J.Cancer 3, 17-29 (1968)
59. LOUDERBACK, A.L. and
SHANBROM, E.: Latic dehydrogenase isoenzym electrophoresis.
JAMA 205 N 05, 96-97 (1968)

60. MAKEPEACE, U.T.: Heterogeneity of tissue dehydrogenases
Archives of Biochemistry and Biophysics
20, 234-238 (1960)

61. MARKERT, C.L.: Isozymes in Kidney development.
In: Hereditary, Developmental and
Immunologic aspects of Kidney Disease.
I. Metcalf, Ed.: 54-63. North-western
University Press, Evanston, III.

62. MARKERT, C.L.: Lactate dehydrogenase isozymes:
Dissoziation and Recombination of
subunits.
Science 140, 1329-1330 (1963)

63. MARKERT, C.L.: The molecular basis for isozymes.
Ann.N.Y.Acad. 151, 14-40 (1968)

64. MARKERT, C.L.;
NÖLLER, F.: Multiple forms of enzymes: tissue,
ontogenetic and species specific pat-
terns.
Proc.Nat.Acad.Sci. 45, 753-763 (1959)

65. MARKERT, C.L. and
URSPRUNG, H.: The ontogeny of isoenzyme patterns of
lactat dehydrogenase in the mouse.
Developmental Biology 5, 363-381 (1962)

66. MASNEROVA, M. et al.: Postnatal changes in phosphatase and
non-specific esterase activity in the
large intestine of the rat.
Experientia 22, 518-519 (1966)

67. MATSUOKA, S.: Studies in the latic dehydrogenase
during development.
Part 1: Changes of the LDM-activity
and isoenzym pattern in healthy human
serum during development.
Acta Pead.Jap. 10, 13-21 (1968)

68. MATSUZAWA, T. and
TAKIKAWA, L.: The alterations of isoenzymic patterns
in lactate dehydrogenase during arti-
ficial maturation of rat ovary.
Endocrinol. Japan. 15, 291-297 (1968)
69. MAURER, H.R.: Disk-Elektrophorese, Theorie und
Praxis der diskontinuierlichen Poly-
acrylamid-Gel-Elektrophorese.
Berlin: de Gruyter 1968
70. MEISER, A.D.F.H.: Semipermeable membranes for improving
the histochemical demonstration of
enzyme activities in tissue sections.
I. Acid phosphatase.
Histochemie 30, 31-39 (1972)
71. MELLORS, A. et al.: Mitochondrial swelling and uncoup-
ling of oxidative phosphorylation
by lysosomes.
Biochem. Biophys. Acta 143, 299-309
(1967)
72. MELLORS, A. and
TAPPEL, A.L.: Hydrolysis of phospholipids by a lyso-
somal enzyme.
J. Lipid. Res. 8, 479-485 (1967)
73. MIRA, H.: Histochemische Untersuchungen über das
Verteilungsmuster und das circadiane
Verhalten hydrolytischer Enzyme der
Darmschleimhaut erwachsener männlicher
Ratten.
Med. Diss. Mainz 1972
74. MILLINGTON, P. and
BROWN, A.: Electron microscop studies of the
distribution of phosphatases in the
rat intestinal epithelium from birth
to ten days after weaning.
Histochemie 8, 109-121 (1967)

75. MOOG, F. and
GREY, R.D.: Alkaline phosphatase isozymes in
the duodenum of the mouse:
Attainment of patterns of spatial
distribution in the normal develop-
ment and under influence of cortison
or actinomycin.
Develop.Biol. 18, 481-500 (1968)
76. MORRIS, I.G.: The transmission of anti-Brucella
abortus agglutinins across the gut
in young rats.
Proc.Roy. Soc. (London) Serb. B,
163, 402-416 (1965)
77. NACHLAS, M. et al.: A histochemical method for the demon-
stration of diphosphopyridine nucleo-
tide diaphorase.
J.Biophys.Biochem.Cytol. 4, 29-38
(1958)
78. ORLIC, D. and
LEV, R.: Fetal rat intestinal absorption of
horseradish peroxidase from swallo-
wed amniotic fluid.
J.Cell.Biol. 56, 106-119 (1973)
79. ÖCKERMAN, P.A.: Glucose-6-phosphatase in human jejunal
mucosa. Properties demonstrating the
specific character of the enzym acti-
vity.
Biochem.Biophys.Acta. 105, 22-33
(1965)
80. OGAWA, K. et al.: Electron histochemical demonstration
of acid phosphatase in normal rat
jejunum.
J. Histochem.Cytochem. 10, 228 (1963)
81. ORNSTEIN, L.: Disc-electrophoresis I background and
theory.
Ann.N.Y. Acad.Sci. 121, 321-349 (1964)

82. PAPACONSTANTINOU, J.: Molecular aspects of lens cell differentiation.
Science 156, 338-346 (1967)
83. PESCE, A. et al.: The comparative enzymology of latic dehydrogenases. III Properties of the H_4 and H_4 enzymes from a number of vertebrates.
J.Biol.Chem. 242, 2151-2167 (1967)
84. PFLEIDERER, G. und JECKEL, D.: Individuelle Milchsäuredehydrogenasen bei verschiedenen Säugetieren
Biochem.Z. 329, 370-380 (1957)
85. PFLEIDERER, G. und WACHSIELE, E.: Alters- und funktionsabhängige Differenzierung der Lactatdehydrogenase menschlicher Organe.
Biochemische Zeitschrift 334, 185-198 (1961)
86. PIERCE, A.E. and SMITH, R.W.: The intestinal absorption pig and bovine immune lactoglobulin and human serum albumin by the newborn pig.
J.Physiol. 190, 1-18 (1967a)
87. PIERCE, A.E. and SMITH, R.W.: The in vitro transfer of bovine immune lactoglobulin across the intestine of new-born pigs.
J. Physiol. 190, 19-34 (1967 b)
88. PLAGEMANN, P.G.W. et al.: Die elektrophoretisch trennbaren Lactatdehydrogenasen des Säugetieres III. Einfluß der Temperatur auf die Lactatdehydrogenasen des Kaninchens.
Biochem. Z. 334, 37-48 (1961)

89. PLAGEMANN, P.G.W. et al.: The electrophoretically distinct forms of mammalian latic dehydrogenase. II. Properties and interrelationships of rabbit and human latic dehydrogenase isozymes. J.Biol.Chem. 235, 2288-2293 (1960)
90. POZNANSKA, H. et al.: Lactate dehydrogenase isoenzymes in malignant tissues. Nature 209, 727-728 (1966)
91. RABINOWITZ, Y. and DIETZ, A.: Genetic control of lactate and malate dehydrogenase isozymes in culture of lymphocytes and granulocytes. Effect of addition of phytohemagglutinin, Actinomycin D or Puromycin. Biochem. Biophys. Acta 139, 254-264 (1967)
92. RAYMOND, S.: Acrylamide gel electrophoresis Ann.N.Y.Acad.Sci. 121, 350 (1964)
93. RAYMOND, S. and WEINTRAUB, L.: Acrylamid gel as an supporting medium for zone electrophoresis. Science 130, 711 (1959)
94. RIECKEN, E.O. et al.: Akute Vitamin A - Intoxikation der Maus. Histochemie 8, 22-33 (1967 b)
95. RIECKEN, E.O. et al.: Histochemical changes in the rat small intestine associates enhanced absorption after high bulk feeding. Enzymol. Biol.Clin. 5, 231-244 (1965)
96. RIECKEN, E.O. et al.: Zur cytochemischen Lokalisation einiger Glykosidasen und anderer saurer Hydrolasen im Resorptionsepithel des menschlichen Dünndarms. Klin. Wschr. 45, 383-387 (1967 a)

97. RODEWALD, R.: Selective antibody transport in the proximal small intestine of the neonatal rat.
J.Cell.Biol. 45, 635-640 (1970)
98. SARRAT, R.: Zur Chemodifferenzierung des Rückenmarks und der Spinalganglien der Ratte.
Histochemie 24, 202-213 (1970)
99. SCHÄFER, A. und
P. HÖHN: Vergleichende histochemische Untersuchungen über das Verteilungsmuster von oxydativen und hydrolytischen Enzymen in der Darmschleimhaut neugeborener und adulter Ratten.
Verh.Dtsch.Ges.Path. 55, 438-444 (1971)
100. SCHMUCKLER, M. et al.: Effect of age on dehydrogenase heterogeneity in the rat.
Journal of Gerontology 22, 8 -13 (1967)
101. SCHULTZ, G.A. and
RUTH, R.F.: The lactate dehydrogenase of the chicken: estimation and repression during the development of lymphoid and other tissues
Canadic.J.of Biochem. 46, 1,555 (1968)
102. SHAW, C.R. and
BARTO, E.: Genetic evidence for the subunit structure of lactate dehydrogenase isozymes.
Proc.N.A.S. 50, 211-214 (1963)
103. SIENITKA, T.K.: Enzymatic histochemistry of gastrointestinal mucous membrane.
Fed.Proc. 19, 897-907 (1960)
104. SINGH, S.N. and
KATUNGO, M.S.: Alterations in lactate dehydrogenase in brain, heart, skeletal muscle and liver of rats of various age.
The Journal of Biological Chemistry 243, 4526-4529 (1968)

105. SMITHIES, O.: Zone electrophoresis in starch gels: group variation in the serum proteins of normal human adults.
Biochem.J. 61, 629-641 (1955)
106. STRAUS, W.: Lysosomes, phagosomes and related particles.
Enzyme Cytology. Hersg.: D.B. Roodyn 239-319 (1967)
107. STRAUS, W.: Cytologic observations on protein uptake and transport in kidney and liver.
In: Macromolecular aspects of protein absorption and excretion in the mammalian intestine.
Rept.of 50 th. Ross Conf. on Pediatric Res. - Hrsg. von D.C. Heiner 46-50, Columbus (1965)
108. TAPPEL, A.L. et al.: Increased lysosomal enzymes in genetic muscular dystrophy.
Arch. Biochem. 96, 340-346 (1962)
109. TOTH, A. and SCHIEBLER, T.H.: Über die Entwicklung der Arbeits- und Erregungsleitermuskulatur des Herzens von Ratte und Meerschweinchen. Histologische, histochemische und elektrophysiologische Untersuchungen.
Z.Zellforsch. 76, 543-567
110. TRIER, J.S. and RUBIN, C.E.: Electronmicroscopy of the small intestine: a review
Gastroenterology 40, 574-603 (1965)
111. VESELL, E.S. and BEARN, A.G.: Localisation of latic dehydrogenase activity in serum fractions.
Proc.Soc.Exp.Biol. and Med. 94, 96-99 (1957)

112. VESELL, E.S. and
YIELDING, L.: Effect of pH, ionic strength and metabolic intermediates on the rates of heat inactivation of lactate dehydrogenase isozymes.
Proc.Nat.Acad.Sci. 56, 1317-1324 (1966)
113. VOLLRATH, L.: Über die Entwicklung des Dünndarms der Ratte. Morphologische, histochemische und experimentelle Untersuchungen
Ergebnisse Anat.Entwickl.-Gesch. 41, Heft 2, 7-70 (1969)
114. WIELAND, T. et al.: Über die Verschiedenheit der Milchsäuredehydrogenasen. IV Quantitative Entwicklung einiger Enzymverteilungsmuster. Vergleichende Betrachtung bei verschiedenen Wirbeltierklassen.
Biochem. Z. 332, 1-10 (1959)
115. WILLIAMS, R.M. and
BECK, F.: A histochemical study of gut maturation
J.Anat. 105, 487-501 (1969a)
116. WILLIAMS, R.M.
and BECK, F.: Demonstration of alkaline phosphatase in the lysosomes in neonate rat ileum.
Histochem. J. 1, 531-538 (1969 a)
117. WILLIAMS, R.M. and
BECK, E.F.: Demonstration of alkaline phosphatase in the lysosomes of neonate rat ileum.
Histochem. J. 1, 531-538 (1969b)
118. Wissig, S.L. and
GRANEY, D.O.: Membrane modifications in the apical endocytotic complex of ileal epithelial cells.
J. Cell Biol. 32, 568-579 (1968)

119. WITHYCOMBE, W.A. et al.: Organ specificity and lactate dehydrogenase activity. Differential inhibition by urea and related compounds.
Biochem. J. 94, 384-389 (1965)
120. WOLFF, H.: Die Isoenzymverteilung der Dehydrogenase in der normalen und der den Tumor angrenzenden Schleimhaut sowie im Krebsgewebe des Magens und des Dickdarms.
Arch.Geschwulst-Forsch. 34, 2/3, 188-197 (1969)
121. WONG, C. et al.: Isolation and properties of lactate dehydrogenase isozyme from swiss mice.
Archives of Biochemistry and Biophysics 146, 454-460 (1971)
122. WROBLEWSKI, F. and GREGORY, K.F.: Latic dehydrogenase isozymes and their distribution in normal tissues and plasma and in disease states.
Ann.N.Y. Acad.Sci. 94, 912-932 (1961)
123. YAMAGUCHI, T.: Ontogenetic studies of lactate dehydrogenase isozymes in human and chicken tissues.
Acta societatis opht. Jap. 74, 177-186 (1970)
124. ZALKIN, H. et al.: Increased lysosomal enzymes in muscular dystrophy of vitamin E -deficient rabbits.
J.Biol.Chem. 237, 2678-2682 (1962)

VII. LEBENSLAUF

Am 18. März 1944 wurde ich, Wolfgang Paasch, als zweites Kind des Dr. med. Walter Paasch und seiner Ehefrau Edith, geborene Pillen, in Heidelberg geboren.

Im September 1950 Umzug von Heidelberg nach Koblenz; hier besuchte ich ab Ostern 1951 die Volksschule und ab April 1955 das Staatliche Neusprachliche Gymnasium Koblenz und erhielt am 1. März 1966 das Zeugnis der Reife.

Ab dem Sommersemester 1966 studierte ich an der Johannes Gutenberg-Universität Mainz Humanmedizin. Im April 1967 absolvierte ich die Naturwissenschaftliche Vorprüfung und im Juli 1970 die Ärztliche Vorprüfung. Am 10.12.1973 bestand ich das Medizinische Staatsexamen.

Seit dem 20. November 1970 bin ich mit der Apothekerin Hildegard Göbel verheiratet, am 27.1.1974 wurde unser Sohn Holger geboren. Derzeit bin ich Medizinalassistent mit Fachrichtung Innere Medizin.

Besonderen Dank möchte ich Herrn Professor
Dr. med. A. Schäfer für die freundliche
Überlassung dieser Arbeit und die hilfreiche
Unterstützung aussprechen.

Weiterhin möchte ich auch Herrn Dr. med.
P. Höhn für seine freundliche Beratung danken.

